论著

文章编号:1000-5404(2007)14-1436-04

MCM5和Ki67在宫颈上皮内瘤变及宫颈癌组织中表达及意义

陈 玮,赵 涌 (重庆医科大学基础医学院病理学教研室,重庆 400016)

提 要: 目的 探讨微小染色体维持蛋白-5(minichromosome maintenance-5, MCM5)和Ki67在宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)及宫颈癌组织中的表达及临床病理意义。**方法** 采用免疫组化技术(S-P法)检测MCM5和Ki67在99例宫颈CIN和宫颈癌中的表达。**结果** MCM5和Ki67在正常宫颈黏膜上皮、CIN Ⅰ~Ⅱ级、CIN Ⅲ级、浸润癌表达的阳性率分别为26.7%、72.0%、80.0%、97.9%和10.0%、32.4%、84.0%、97.9%。各级CIN与浸润癌相比MCM5的表达率差异具有显著性($P<0.05$);在CIN Ⅲ级和宫颈癌中MCM5的表达与Ki67表达呈正相关($r=0.687$, 0.936, $P<0.05$)。MCM5和Ki67表达率与临床分期及病理分级有关($P<0.05$)。**结论** MCM5和Ki67可作为反映宫颈上皮增生病变程度及生物学行为的指标,对宫颈非浸润性病变与浸润性病变的诊断及鉴别有参考价值。

关键词: MCM5;Ki67;宫颈癌;CIN;免疫组织化学

中图法分类号: R730.21;R730.43;R737.3 **文献标识码**: A

Expressions of MCM5 and Ki67 in cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer and their clinical significance

CHEN Wei, ZHAO Yong (Department of Pathology, Institute of Basic Medical Science, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To study the expressions of MCM5 and Ki67 in cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and cervical cancer and their clinical significance. Methods Immunohistochemistry (S-P method) was used to detect the expressions of MCM5 and Ki67 in 50 CIN and 49 cervical cancer. Results The positive expression rate of MCM5 and Ki67 in normal cervical epithelium, CIN Ⅰ-Ⅱ, CIN Ⅲ and cervical cancer were 26.7%, 72.0%, 80.0%, 97.9% and 10.0%, 32.4%, 84.0%, 97.9% respectively. The positive expression rate of MCM5 was significantly different between CIN and cervical cancer ($P<0.05$). The expressions of MCM5 and Ki67 had a positive correlation in CIN Ⅲ and cervical cancer ($P<0.05$). The positive expressions of MCM5 and Ki67 were closely correlated with clinical stage and pathological grade of cervical cancer ($P<0.05$). Conclusion MCM5 and Ki67 may be used as markers for aggressive biological behavior in cervical cancer, and may be useful to distinguish CIN and cervical cancer.

Key words: MCM5; Ki67; cervical cancer; cervical intraepithelial neoplasia; immunohistochemistry

肿瘤细胞增殖活性与肿瘤生物学行为密切相关,是用于反映肿瘤良恶性及恶性程度的重要指征。微小染色体维持蛋白-5(minichromosome maintenance-5, MCM5)是近年来发现的一种能较好地反映细胞增殖活性程度的指标[1],在某些良恶性病变鉴别上有重要意义。本实验采用免疫组化技术检测MCM5和Ki67在宫颈正常黏膜上皮、宫颈上皮内瘤变(cervical intraepithelial neoplasia, CIN)及浸润癌中的表达情况,并探讨其临床病理意义。

作者简介:陈 玮(1976-),男,重庆市人,硕士研究生,主要从事妇科肿瘤方面的研究。电话:(023)60999399,E-mail: trade268@126.com

通讯作者:赵 涌,电话:13320338212

收稿日期:2006-07-28;修回日期:2007-01-15

1 材料与方法

1.1 材料

采用本教研室2002-2005年宫颈活检及手术切除的病理标本99例,其中CIN Ⅰ~Ⅱ级25例,CIN Ⅲ级25例,浸润癌49例,全部经术后病理检查确诊。49例浸润癌患者年龄27~74岁,平均38.79岁,病理分级:G_1级:9例,G_2级:32例,G_3级:8例;根据国际妇产科联盟(FIGO)提出的分期标准进行临床分期:$Ⅰ_a$期:4例,$Ⅰ_b$期:21例,$Ⅱ_a$期:15例,$Ⅱ_b$期:9例。另取30例正常宫颈上皮组织作为对照。

1.2 方法

1.2.1 试剂与方法 试剂:鼠抗人MCM5单克隆抗体购自美国Lab Vision公司,鼠抗人Ki67单克隆抗体与S-P试剂盒,购自北京中杉生物技术开发公司,DAB试剂盒购自福州迈新

生物技术开发公司。方法：免疫组化染色采用 S-P 法，DAB 显色。石蜡切片脱蜡水化后，微波抗原修复，过氧化酶阻断剂灭活内源性过氧化物酶活性，羊血清工作液封闭，滴加一抗 4 ℃过夜，滴加生物素标记的二抗，滴加链亲和素一过氧化物酶溶液。DAB 显色，苏木精复染。用已知阳性组织切片为阳性对照，用 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.2.2　结果判断　显微镜下观察细胞核见棕黄色颗粒为 MCM5 和 Ki67 阳性细胞。阳性病例判断：每张切片随机观察 5 个高倍视野，每个视野计数 100 个肿瘤细胞。阴性（－）：无棕黄色染色或染色阳性细胞数 < 10%；弱阳性（＋）：阳性细胞数 10% ~25%；中等阳性（＋＋）：阳性细胞数 25% ~50%；强阳性（＋＋＋）：阳性细胞数 ≥50%。以阳性细胞数 ≥10% 为阳性病例。

1.3　统计学处理

采用 SPSS 12.0 统计软件进行 χ^2 检验及 Spearman 等级相关分析。

2　结果

2.1　MCM5 在 CIN 和宫颈癌中的表达

MCM5 在 CIN 和宫颈癌中阳性表达呈棕黄色且主要定位于细胞核（图 1 ~ 3）。从正常宫颈黏膜上皮、CIN 到浸润癌，MCM5 阳性表达率呈渐进性增高（表 1）。宫颈癌 MCM5 表达率明显高于正常宫颈黏膜上皮、CIN Ⅰ ~ Ⅱ级和 CIN Ⅲ级，差异具有显著性（$P<0.05$），而 CIN Ⅰ ~ Ⅱ级与 CIN Ⅲ级之间，MCM5 的表达差异无显著性（$P>0.05$）。

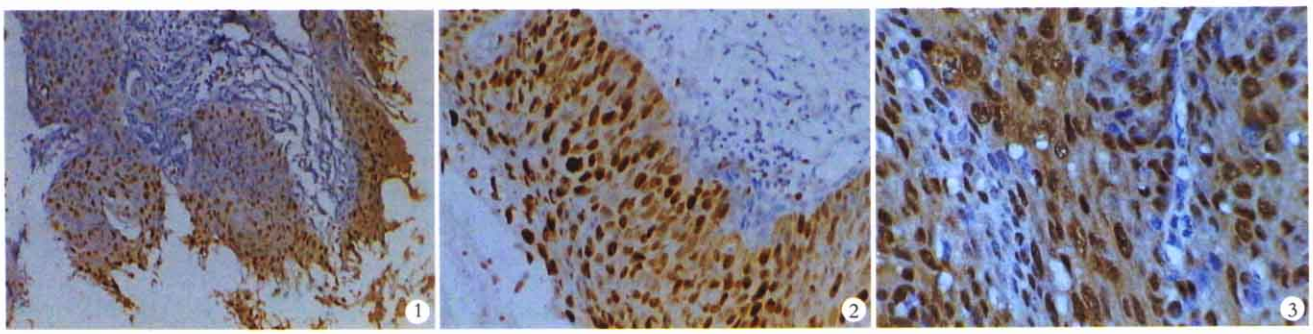


图 1　MCM5 在 CIN Ⅱ中的阳性表达（S-P ×200）
图 2　MCM5 在 CIN Ⅲ中的阳性表达（S-P ×400）
图 3　MCM5 在宫颈癌中的阳性表达（S-P ×400）

表 1　宫颈不同类型病变组织中的 MCM5 和 Ki67 表达情况

组织学类型	MCM5								Ki67							
	n	－	＋	＋＋	＋＋＋	总阳性率(%)	＞＋＋率(%)	*P* 值	*n*	－	＋	＋＋	＋＋＋	总阳性率(%)	＞＋＋率(%)	*P* 值
正常黏膜上皮	30	22	8	0	0	26.7	0		30	27	3	0	0	10.0	0	
CIN Ⅰ ~ Ⅱ级	25	7	12	5	1	72.0[a]	24.0	0.03	25	17	7	1	0	32.4[a]	4.0	0.108
CIN Ⅲ级	25	5	8	8	4	80.0[a]	48.0	0.305	25	4	10	8	3	84.0[b]	44.0	0.001
浸润癌	49	0	10	21	18	97.9[bc]	79.5	0.015	49	1	12	24	12	97.9[c]	71.4	0.03

a：$P<0.05$，与正常黏膜上皮比较；b：$P<0.05$，与 CIN Ⅰ ~ Ⅱ级比较；c：$P<0.05$，与 CIN Ⅲ级比较

2.2　Ki67 在 CIN 和宫颈癌中的表达

Ki67 在正常宫颈黏膜皮、CIN Ⅰ ~ Ⅱ、CIN Ⅲ级与浸润癌表达的阳性率分别 10.0%、32.4%、84.0%、97.9%。在正常宫颈黏膜上皮和 CIN Ⅰ ~ Ⅱ级的表达差异无显著性（$P>0.05$），但在 CIN Ⅰ ~ Ⅱ级与 CIN Ⅲ级之间，CIN Ⅲ级与浸润癌之间 Ki67 的阳性表达差异具有统计学意义（$P<0.05$）。

2.3　MCM5 和 Ki67 表达状况与宫颈癌的临床病理因素的关系

宫颈癌组织中 MCM5 表达与患者年龄无关（$P>0.05$），而与临床分期及病理分级有关。宫颈癌 Ⅱ_a ~ Ⅱ_b 期显著高于 Ⅰ_a ~ Ⅰ_b 期（$P<0.05$），病理学分级 G_2、G_3 显著高于 G_1（$P<0.05$），而 G_2、G_3 之间 MCM5 表达无显著差异（$P>0.05$）。

Ki67 的表达在宫颈癌临床 Ⅱ_a ~ Ⅱ_b 期显著高于 Ⅰ_a ~ Ⅰ_b 期（$P<0.05$），病理学分级 G_2、G_3 级显著高于 G_1 级（$P<0.05$），而 G_2、G_3 级之间表达无差异（$P>0.05$）。Ki67 表达与年龄无关（$P>0.05$）（表 2）。

2.4　MCM5 和 Ki67 在宫颈组织中表达的相关性

CIN 及宫颈癌 MCM5 和 Ki67 的表达进行等级相关分析，在正常宫颈黏膜上皮，CIN Ⅲ级及浸润癌中 MCM5 和 Ki67 的表达呈显著正相关（Spearman 相关系数分别为 $r=0.58$，0.687，0.936，$P<0.05$），仅在 CIN Ⅰ ~ Ⅱ级中，两者表达缺乏明显相关性（$r=0.28$，$P>0.05$）（表 3）。

表2 MCM5 和 Ki67 与宫颈癌临床病理关系

组织学类型	n	MCM5					Ki67				
		−	+	++~+++	> ++率(%)	P值	−	+	++~+++	> ++率(%)	P值
年龄(岁)											
<40	30	0	10	20	69.6		1	9	20	66.7	
≥40	19	1	6	12	61.9	0.422	1	5	13	65.7	0.943
病理学分级											
G_1	9	0	6	3	30.0[a]		0	5	4	44.4[a]	
G_2	32	0	7	25	78.1		0	5	27	84.3	
G_3	8	0	1	7	87.5	0.017	1	1	6	75.0	0.015
临床分期											
I_a~I_b	25	1	11	13	52.0		1	10	14	56.0	
II_a~II_b	24	0	1	23	95.8[b]	0.002	0	3	21	87.5[b]	0.046

a：$P<0.05$，与病理学 G_2、G_3 级比较；b：$P<0.05$，与 I_a~I_b 期比较

表3 MCM5 和 Ki67 在宫颈不同病变组织中表达的关系

MCM5	正常黏膜上皮		CIN Ⅰ~Ⅱ级		CIN Ⅲ级		浸润癌	
	Ki67 −	Ki67 +	Ki67 −	Ki67 +	Ki67 −	Ki67 +	Ki67 −	Ki67 +
−	20	3	5	4	3	3	0	1
+	5	2	12	6	2	18	1	47

3 讨论

细胞的增殖与肿瘤的发生、浸润及转移过程密切相关。评价细胞的增殖状态，对研究肿瘤的生物学行为、判断其危害性具有重要意义。MCM 是一个是由 6 个亚单位组成的六聚体复合物，是真核生物 DNA 复制必不可少的物质[2]，在 DNA 复制起始延伸过程中发挥重要的作用。MCM5 是 MCM 家族的一员[3]，在静止期的细胞很少表达，被认为是一种与增殖密切相关的因子，可以作为反映细胞增殖的一项生物学标记物[4]。近年来国外有一些研究者将 MCM5 用于检测肿瘤细胞增殖状况，Sirieix 等[5]检测食道标本发现 MCM5 在食道癌中成强阳性表达，而在大多数正常食道黏膜中呈阴性。Stoeber 等[6]在对生殖泌尿系肿瘤的检测中也发现在正常上皮内 MCM5 几乎不表达或者表达极弱，而在肿瘤组织中 MCM5 则有较强的表达。这都提示 MCM5 能较好的反映肿瘤细胞的增殖特性，对肿瘤的检诊有一定意义。而目前将 MCM5 用于宫颈上皮病变的检测目前仅有个别报道。本实验通过对 129 例宫颈正常黏膜上皮、CIN 及宫颈癌病例 MCM5 的表达进行检测，探讨其在诊断及鉴别中的意义。结果显示 MCM5 在宫颈正常黏膜上皮中无表达，或仅在基底 1~2 层细胞中有少量弱阳性表达。而从 CIN Ⅰ级到 CIN Ⅲ级阳性细胞数量增多，分布增广。浸润癌 MCM5 的表达则进一步增强，阳性细胞弥漫分布，染色加深。宫颈正常黏膜上皮、CIN 和浸润癌的 MCM5 表达呈逐渐增强趋势，正好与这 3 组病变本身增殖活性程度逐渐增高相一致。这提示随着宫颈上皮由正常向非典型增生和浸润癌转变过程中进入增殖周期的细胞逐渐增多。MCM5 的表达较好地反映了宫颈上皮不同增殖阶段细胞增殖活性的变化。

从实验结果观察到，宫颈正常黏膜中 MCM5 表达明显低于 CIN 及浸润癌（$P<0.05$），尤其是在宫颈正常黏膜与宫颈高度上皮内病变，如 CIN Ⅲ级或浸润癌之间，MCM5 的表达差异更具显著性（$P<0.01$）。浸润癌中 MCM5 的表达又明显高于 CIN Ⅰ~Ⅱ级与 CIN Ⅲ级（$P<0.01$，$P<0.05$）。而 CIN Ⅰ~Ⅱ级与 CIN Ⅲ级相比，MCM5 的表达无明显差异（$P>0.05$）。这提示 MCM5 作为一项较好的细胞增殖标记物，对区分宫颈正常黏膜与各级 CIN 病变及浸润癌有一定参考价值。在宫颈癌中 MCM5 的表达与临床病理特征关系方面，宫颈癌临床分期Ⅱ期病例明显高于Ⅰ期病例；病理学分级 G_2、G_3 级显著高于 G_1 级（$P<0.05$）。这些结果提示 MCM5 的表达与宫颈癌的生物学行为及恶性程度有关，MCM5 的检测将有助于临床评估宫颈癌患者的预后。

Ki67 是一种与增殖细胞相关的核抗原[7]，由于其半衰期较短，而且阳性表达几乎可以覆盖整个有丝分裂期，因此可以较好地反映细胞的增殖活性。本实验结果显示，Ki67 在宫颈正常组织和宫颈低度上皮内病变中几乎不表达，而在宫颈癌组织中阳性表达达到 98%，两者阳性表达率有显著差异（$P<0.01$），提示宫颈癌的发生与细胞过度增殖有关。另外 Ki67 在宫颈癌中的表达率与年龄无明显关系（$P>0.05$），临床分期Ⅱ期表达高于Ⅰ期病例，病理 G_2、G_3 级表达高于 G_1 级，且差异具有显著性（$P<0.05$）。本组实验显示，MCM5 和 Ki67 在 CIN Ⅲ级中的总阳性率和强阳性率比较接近，分别为 80.0%、48.0% 和 84.0%、44.0%。在浸润癌中分别为 97.9%、79.5% 和 97.9%、71.4%。MCM5 与 Ki67 在宫颈正常黏膜上皮，CIN Ⅲ级以及浸润癌中表达呈正相关关系（$r=0.687$，0.936，$P<0.05$）。但在宫颈低度上皮内病变如 CIN Ⅰ~Ⅱ级中，MCM5 的总阳性率和强阳性率分别为 72.0% 和 24.0%，而 Ki67 的表达仅为 32.4% 和 4.0%，这提示 MCM5 对宫颈低度上皮内增生病变的敏感性高于 Ki67，这可能和 MCM5 更早的参与染色体 DNA 复

制[8,9]，更多的参与细胞的有丝分裂有关[10]。因此对 CIN Ⅰ级或者 CIN Ⅱ级这样低度上皮内病变，MCM5 是比 Ki67 更灵敏的检测指标。但 Ki67 在 CIN Ⅰ ~ Ⅱ级和 CIN Ⅲ级病变表达的差异性比 MCM5 更显著（$P < 0.01$），在两者鉴别上更具参考意义。

综上所述，在宫颈组织中，MCM5 是一种较可靠的细胞增殖标记物，它能较准确的反映细胞的增殖活性，对区分宫颈鳞癌与各级 CIN 病变有一定参考价值。MCM5 和 Ki67 在反映宫颈鳞状上皮细胞增殖活性方面，各有其特点和优势，两者结合使用对判断宫颈上皮病变的性质更具价值。

参考文献：

[1] Schaarschmidt D, Ladenburger E M, Keller C, *et al*. Human MCM proteins at a replication origin during the G1 to S phase transition[J]. Nucleic Acids Res, 2002, 30(19): 4176 - 4185.

[2] Lei M, Tye B K. Initiating DNA synthesis: from recruiting to activating the MCM complex[J]. J Cell Sci, 2001, 114(Pt 8): 1447 - 1454.

[3] Snyder M, He W, Zhang J J. The DNA replication factor MCM5 is essential for Stat1-mediated transcriptional activation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(41): 14539 - 14544.

[4] Guida T, Salvatore G, Faviana P, *et al*. Mitogenic effects of the up-regulation of minichromosome maintenance proteins in anaplastic thyroid carcinoma[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2005, 90(8): 4703 - 4709.

[5] Sirieix P S, O'Donovan M, Brown J, *et al*. Surface expression of minichromosome maintenance proteins provides a novel method for detecting patients at risk for developing adenocarcinoma in Barrett's esophagus [J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(7): 2560 - 2566.

[6] Stoeber K, Swinn R, Prevost A T, *et al*. Diagnosis of genito-urinary tract cancer by detection of minichromosome maintenance 5 protein in urine sediments[J]. J Natl Cancer Inst, 2002, 94(14): 1071 - 1079.

[7] Ferrandina G, Ranelletti F O, Larocca L M, *et al*. Tamoxifen modulates the expression of Ki67, apoptosis, and microvessel density in cervical cancer[J]. Clin Cancer Res, 2001, 7(9): 2656 - 2661.

[8] Williams G H, Swinn R, Prevost A T, *et al*. Diagnosis of oesophageal cancer by detection of minichromosome maintenance 5 protein in gastric aspirates[J]. Br J Cancer, 2004, 91(4): 714 - 719.

[9] Shechter D, Ying C Y, Gautier J. DNA unwinding is an MCM complex-dependent and ATP hydrolysis-dependent process [J]. J Biol Chem, 2004, 279(44): 45586 - 45593.

[10] Korkolopoulou P, Givalos N, Saetta A, *et al*. Minichromosome maintenance proteins 2 and 5 expression in muscle-invasive urothelial cancer: a multivariate survival study including proliferation markers and cell cycle regulators[J]. Hum Pathol, 2005, 36(8): 899 - 907.

（编辑　龙　亮）

（上接 1435 页）

的患病率最高，超重组高脂血症患病率最高。女性 532 例肥胖、超重、正常组的脂肪肝、糖尿病、高血压、胆囊结石 4 种疾病的患病率有非常显著差异（$P < 0.01$），肥胖组 5 种慢性疾病患病率最高。不同性别正常组 5 种慢性疾病的患病率最低（表 2）。

表 2　不同性别体质量指数与慢性疾病的关系　例数（%）

组别	脂肪肝		高脂血症		糖尿病		高血压		胆囊结石	
	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女
肥胖组	57(30.3)	23(29.5)	106(56.4)	48(61.5)	7(3.7)	12(15.4)	79(42.0)	45(57.7)	20(10.6)	25(32.1)
超重组	22(14.6)	6(7.1)	92(60.9)	40(47.1)	13(8.6)	4(4.7)	50(33.1)	26(30.6)	16(10.6)	14(16.5)
正常组	13(4.4)	11(3.0)	120(40.1)	159(43.1)	13(4.4)	8(2.2)	88(29.4)	49(13.3)	21(7.0)	33(9.2)
P 值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.05	>0.05	<0.01	<0.05	<0.01	>0.05	<0.01

3　讨论

本研究显示，在高校知识分子群体中肥胖的检出率为 22.7%，肥胖组合并的 5 种慢性疾病患病率最高。女性肥胖组并发糖尿病、胆囊结石患病率明显高于正常组，男性这两种疾病患病率与肥胖程度关系不明显，而正常组的患病率高于肥胖组，警示男性非肥胖人群中对糖尿病预防要引起高度重视[3]。肥胖组的脂肪肝和高血压患者的年龄均数低于超重、正常组，脂肪肝、高脂血症、高血压在 20 ~ 30 岁段患病率并不低。肥胖是引起这几种疾病的重要诱因，而年龄因素年轻化也要引起高度警惕。

高校知识分子人群有繁重的教学、科研工作，不规律的生活节奏与方式且缺乏体育锻炼，当 BMI 超重、肥胖时，不能引起高度警惕，日积月累，就可能并发慢性疾病。如将我国目前超重人群 BMI 控制在 24 以下，可以防止人群中 40% ~ 50% 的肥胖相关疾病的危险因素的聚集。肥胖是逐渐形成的，减肥始于预防，它的治疗干预也要逐步进行。首先，健康教育与健康促进是超重、肥胖的非药物综合性干预的基础，必须让人群对肥胖危害的相关知识有认识，树立正确健康观念；其次，制定有针对性控制体重个体化的方法与措施；第三，制定降低 BMI 的综合干预目标要循序渐进，坚持合理膳食，戒烟限酒，减少静坐，积极的体育锻炼，逐步建立健康生活行为方式。控制 BMI 是预防或减少某些慢性病发生的最有效措施。

关键词：BMI；肥胖；慢性疾病

中图法分类号：R195.1　　文献标识码：B

参考文献：

[1] 傅　华. 社区预防与保健[M]. 北京：人民卫生出版社，2006：254.

[2] 王纯正. 腹部超声诊断图谱[M]. 沈阳：辽宁科学技术出版社，1991：80 - 84.

[3] 胡　健，杨　俊，江映红，等. 贵州省贵阳市 1 402 名中学教师高血压病及相关疾病流行病学调查[J]. 实用临床医药杂志，2005，9(3)：73 - 75.

（编辑　汪勤俭）